

La hepatología
molecular:
un enfoque
multidisciplinar

Virus de la Hepatitis C

ERWIN CHIQUETE ANAYA
LAURA VERÓNICA SÁNCHEZ OROZCO
ARTURO PANDURO CERDA

INTRODUCCIÓN

El cuadro clínico que ahora conocemos como de hepatitis asociado a transmisión parenteral se reconoció hace más de 100 años; sin embargo, la primera descripción de hepatitis postransfusional fue hecha por Beeson en 1943 (1).

Posterior a la identificación de los virus de la hepatitis A y B en la década de 1970, fue quedando claro que no todos los casos de hepatitis postransfusional se debían a estos virus. Se le llamó "hepatitis no-A no-B" a aquel "misterioso" cuadro no originado por éstos. Para comprobar que la hepatitis no-A no-B era causada por un agente infeccioso, varios investigadores inocularon chimpancés con sueros de pacientes seronegativos para hepatitis A y B. De 1 a 3 meses después de la inoculación, los primates desarrollaron el cuadro clínico de hepatitis postransfusional que habían presentado las personas de quienes se extrajeron las muestras de suero para inocular a los chimpancés (1).

A principios de la década de 1980 Bradley y col. descubren que el agente de la hepatitis no-A no-B era un virus y que éste tenía envoltura lipídica, pues se inactivaba con cloroformo (1).

En 1989 Choo y col. identifican al virus causante de la hepatitis no-A no-B, así como un ensayo inmunológico para su detección (1-3), se supo entonces que su genoma era de RNA y más tarde hacen pública la secuencia de ácidos nucleicos, optándose por cambiar el nombre de virus no-A no-B al de virus de la hepatitis C (VHC) (4). Estos hechos

fueron calificados por la comunidad mundial como un triunfo de la biología molecular aplicada a la medicina, siendo este virus el primero en identificarse como un ente biológico particular mediante técnicas de ingeniería genética.

EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia de la infección crónica por VHC se suele estimar mediante la detección de anticuerpos dirigidos contra antígenos de este virus. Así, se estima que esta infección afecta a cerca del 3% de la población mundial (5). Los factores de riesgo asociados más importantes son el abuso de drogas intravenosas y la transfusión de productos sanguíneos antes del establecimiento del tamizaje para la detección de la infección por VHC en banco de sangre; sin embargo, una gran proporción de casos permanecen aún esporádicos (6,7).

Tanto la frecuencia de la infección por VHC como los factores de riesgo pueden variar según de la población considerada (5), encontrándose zonas del mundo con una prevalencia inferior al 1% y otras como en Egipto cuya prevalencia es superior al 20% (5,7).

En los Estados Unidos la prevalencia de la infección por el VHC es de 1.8%, que corresponde a 3.9 millones de norteamericanos afectados (8). Los principales factores de riesgo en esta población es el uso de drogas intravenosas ilegales, hábitos sexuales de alto riesgo (promiscuidad sexual, etc.), pobreza y educación limitada, entre otros.

RESUMEN

El cuadro clínico que ahora conocemos como de hepatitis asociado a transmisión parenteral se reconoció hace más de 100 años. Se estima que esta infección por el virus de la hepatitis C (VHC) afecta a cerca del 3% de la población mundial. En México la prevalencia es de aproximadamente el 1%, dando cuenta de 1 millón de individuos afectados. La infección crónica por el VHC puede originar cirrosis hepática y eventualmente carcinoma hepatocelular. El tratamiento actual dista mucho de ser perfecto, obteniéndose con éste un 40% a 60% de eliminación del virus circulante, dependiendo del genotipo.

Palabras clave: Genómica, Hepatitis C, hígado, proteómica.

ABSTRACT

The clinical picture that now we know as hepatitis associated with parenteral transmission was recognized more than 100 years ago. It is believed that the hepatitis C virus (HCV) infection affects to near 3% of population worldwide. In Mexico the prevalence is approximately 1%, which accounts for 1 million affected individuals. The chronic infection with HCV can originate hepatic cirrhosis and eventually hepatocellular carcinoma. The current treatment is far from being perfect, obtaining 40% to 60% of elimination of the circulating virus, depending on the genotype.

Keywords: Genomics, hepatitis C, liver, proteomics.

FIGURA 1
GENOMA Y PROTEOMA DEL VHC

Gen RNA (+)

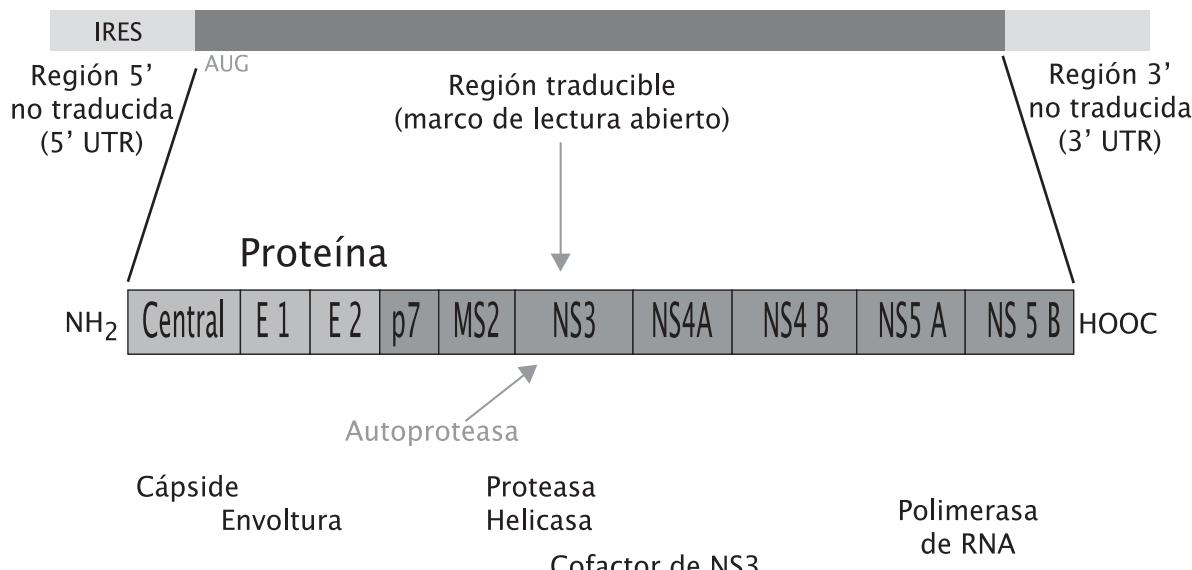
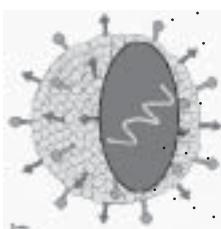


FIGURA 2
EL VIRIÓN COMPLETO DEL VHC



- Glucoproteínas de la envoltura (E1 y E2)
- Envoltura lipídica
- RNA viral (genoma)
- Nucleocápside (proteína C)

En México, la prevalencia de la infección por VHC se estima que es de alrededor del 1% (9), lo que daría cuenta de 1 millón de mexicanos afectados, siendo la transfusión de productos sanguíneos el principal factor de riesgo; sin embargo, otros factores como cirugías, tatuajes y perforaciones cutáneas (*piercing*), riesgo ocupacional en profesionales de la salud, contacto con trabajadoras sexuales y ciertos hábitos como el uso de cocaína han sido asociados a esta infección (10,11). En nuestro país como en muchos otros, la prevalencia de la infección por VHC se ha estimado usando los datos reportados en bancos de sangre, que estudia a un sector de la población altamente seleccionada, excluyéndose a individuos que declaran factores de riesgo en la encuesta de selección, así como a niños y ancianos. Por lo tanto, carecemos de un estudio poblacional real, ya que la proporción de resultados falso-positivos de una serología en los bancos de sangre de diversas partes del mundo es de hasta el 30% (12-14).

GENÓMICA Y PROTEÓMICA DEL VHC

El VHC pertenece a la familia *flaviviridae* y al género hepacivirus, del que es actualmente único miembro (15-17). Los miembros de esta familia son virus pequeños con cápside proteica y cubierta de lípidos que contienen un genoma constituido por una cadena sencilla de RNA con sentido positivo (18). A la familia *flaviviridae* pertenecen tres géneros, los flavivirus, pestivirus y hepacivirus. Los virus más relacionados filogenéticamente al VHC, son el virus de la hepatitis G, el virus de la fiebre amarilla y el virus del dengue (19).

El tiempo calculado de aparición del VHC como especie nueva va desde 1000 a 2000 años, a partir de este momento el VHC evolucionó en cepas relacionadas llamadas subtipos, los cuales nacieron hace 600 años aproximadamente, habiendo unos tan jóvenes como el genotipo 1b que se originó hace 100 años aproximadamente (20,21).

Su amplia heterogeneidad comparada con el poco tiempo que tiene como especie en el planeta, se explica por su elevada tasa de mutación, que va de $1.5 \text{ a } 2 \times 10^{-3}$ sustituciones de nucleótidos por sitio en el genoma, al año (16). Es decir, unas 15 mutaciones puntuales al año, por cada genoma viral.

El genoma del VHC es un RNA de cadena sencilla y de polaridad positiva (RNA +). Tiene aproximadamente 9500 nucleótidos (9.5 kb) que codifican una poliproteína de 3000 aminoácidos (Figura 1). Posee dos regiones a cada extremo de su genoma que no son traducidas por el ribosoma, llamadas 5' UTR (del inglés, *untranslated region*) y 3' UTR (15,16,19,20). La longitud del genoma del VHC y de la poliproteína codificada es ligeramente diferente entre las distintas variantes genéticas (genotipo viral) (16). El virión completo tiene un diámetro aproximado de 55 a 60 nm (1,7,18) (Figura 2).

De acuerdo a las diferentes secuencias de nucleótidos correspondientes al VHC, éste es clasificado en 6 tipos, lla-

TABLA 1
POSOLOGÍA DEL PEGINTERFERÓN α 2A

Peginterferón α 2 ^a	Genotipos 1 y 4	Otros genotipos
Duración	48 semanas	24 semanas
Dosis		
<75 kilogramos de peso	PEG 180 µg / semana Riba 1000 µg / día	PEG 180 µg / semana Riba 800 µg / día
≥75 kilogramos de peso	PEG 180 µg / semana Riba 1200 µg / día	

mados genotipos y designados con números arábigos. A su vez, estos se dividen en subtipos, designados con letras minúsculas (15,16,19,20). Algunos autores han mencionado que existen 11 genotipos, sin embargo:

- Los supuestos genotipos 7, 8, 9 y 11 son subespecies del genotipo 6a.
- El supuesto genotipo 10 es subespecie del genotipo 3.

Además de los genotipos y subtipos existen variantes genéticas muy estrechamente relacionadas filogenéticamente, que es la forma en que circula el VHC en el torrente sanguíneo. A estas variantes genéticas se les denomina cuasiespecies (15,16). Los genotipos varían entre sí en aproximadamente 30%, los subtipos entre sí 20% y las cuasiespecies en menos del 10% (16).

Aunque los seis genotipos se encuentran alrededor del mundo, presentan una distribución geográfica característica.

Dado que el genoma del VHC es un RNA de polaridad positiva, le permite al virus entrar directamente al ribosoma para iniciar la traducción y dar origen a su poliproteína. Esta poliproteína sufre proteólisis por proteasas virales y del huésped, mecanismo por el cual se producen 10 proteínas virales de las cuales tres son estructurales (C, E1 y E2) y siete no estructurales (p7, NS2, 3, 4A, 4B, 5A, 5B) (1,7,18) (Figura 1).

Se considera que la mayoría de las proteínas no estructurales (NS2 a NS5B) participan en la replicación viral. Por ejemplo, NS2 y NS3 son proteínas con actividad de proteasas y NS4 es un cofactor de NS3 (Figura 1). NS5B es la proteína responsable de la replicación viral la cual contiene actividad de polimerasa de RNA. La proteína de la cápside que es codificada por la región C en su forma oligomerizada se une al RNA de polaridad positiva (Figura 1) (1,17,18). Cada región E (E1 y E2) produce una glicoproteína que se incorpora en la envoltura viral de forma separada o bien formando complejos diméricos E1/E2 (18). Dentro de la región E2 se encuentran las regiones hipervariables 1 y 2, que tienen una elevada velocidad de mutación y una heterogeneidad considerable de aminoácidos; probablemente, debido a la presión selectiva de los anticuerpos específicos contra el VHC. La función de la proteína p7 aún se desconoce (1,17,18).

CICLO DE VIDA DEL VHC

El VHC se transmite por vía parenteral a partir de productos sanguíneos y en menor proporción por vía sexual o transmisión vertical (materno-fetal) (7). Otras rutas parenterales

TABLA 2
POSOLOGÍA DEL PEGINTERFERÓN α 2B

Todos los genotipos	
Duración	48 semanas
Dosis ponderal	PEG 1.5 µg / Kg/ semana Riba 10.6 µg / Kg / día

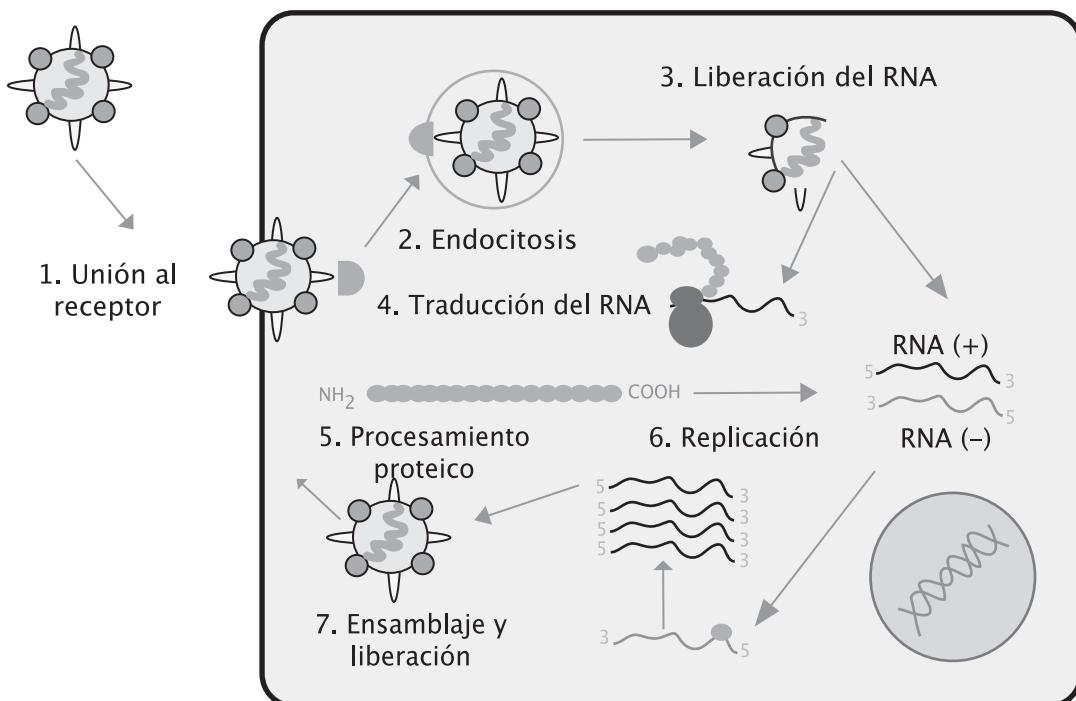
de transmisión son el uso de equipos de diálisis, de tatuajes o equipo de punción y cirugía infectados, el trasplante de órganos de un donador infectado y el uso de jeringas contaminadas en los usuarios de drogas intravenosas (1,7). La transmisión por contacto sexual con un individuo infectado y la exposición perinatal son rutas inefficientes, a menos de que exista coinfección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que incrementa el riesgo de infección por estas vías (1,5,7,10). Se ha estimado que la probabilidad de adquirir la infección por contacto heterosexual reiterado con un miembro de la pareja infectado es de 0.3% a 10 años (22).

La proteína E2, contiene un sitio de unión para CD81, proteína que se expresa en hepatocitos y linfocitos B, la cual se cree que funciona como un receptor o co-receptor para la internalización del virus a estas células (17,18). Además, existen evidencias que muestran que los anticuerpos específicos contra la glucoproteína E2 previenen la unión del VHC a células en cultivo (18,23). El VHC puede circular en el torrente sanguíneo formando complejos con las lipoproteínas de baja densidad (*LDL*, por sus siglas en inglés). El VHC también puede ingresar a la célula huésped mediante el receptor de *LDL* (23,24).

En los individuos infectados el VHC circula como una mezcla de las variantes genéticas llamadas cuasiespecies (1,17). La presencia de estas cuasiespecies también presenta una relación con la evolución clínica de la infección así como con la respuesta al tratamiento. Existen evidencias que muestran que a mayor número de cuasiespecies presentes en un individuo, mayor severidad de daño hepático y menor respuesta favorable al tratamiento antiviral (17).

Al penetrar el VHC a la célula huésped, éste puede tomar una de dos alternativas, permanecer en estado latente sin producción de nuevas partículas virales, o bien, comen-

FIGURA 3
ENTRADA DEL VHC A LA CÉLULA Y SU CICLO DE VIDA INTRACELULAR



zar un ciclo de vida intracelular (Figura 3) (1,18). Cuando el VHC se encuentra en actividad, penetra directamente al ribosoma donde es traducida su información genética a la poliproteína que dará origen a péptidos individuales con función esencial en la replicación y ulterior ensamblaje del virión. El RNA viral de hebra positiva no contiene la caperuza de 5'-metilguanidina, ni la cola poli A característica de los RNA mensajeros de eucariotas. No obstante, es capaz de dirigir la traducción de la poliproteína. En el extremo 5' terminal se encuentra una región no codificante de aproximadamente 340 nucleótidos (5' UTR), esta región es altamente conservada en los diferentes aislamientos del VHC y forma una estructura secundaria y terciaria en la cual se encuentra el sitio interno de entrada al ribosoma (IRES). Éste dirige al RNA viral a la subunidad 40S del ribosoma en donde se reconoce el codón de inicio de la traducción (17,18).

La replicación del RNA viral se lleva a cabo por la enzima RNA polimerasa dependiente de RNA (codificada por el gen NS5B), que da lugar a una hebra de polaridad negativa intermedia, que funciona como una "copia maestra" de la que se replicarán múltiples hebras de RNA de polaridad positiva (17,18). Aunque el desarrollo de hepatitis en pacientes inmunocomprometidos sugiere que las proteínas del VHC pueden conducir al efecto citopático, el proceso de la replicación generalmente no produce la lisis celular (1,7). En la mayoría de los casos, la infección crónica continúa por muchos años sin evidencia de daño hepático (1). Aún se conoce poco de los mecanismos precisos de la replicación viral, incluyendo la entrada del virus a la célula huésped, la replicación del RNA, el empaquetamiento del genoma viral, la formación del virión y su salida de la célula; debido a la

carencia de un sistema de cultivo eficiente del VHC o de un modelo animal conveniente (18).

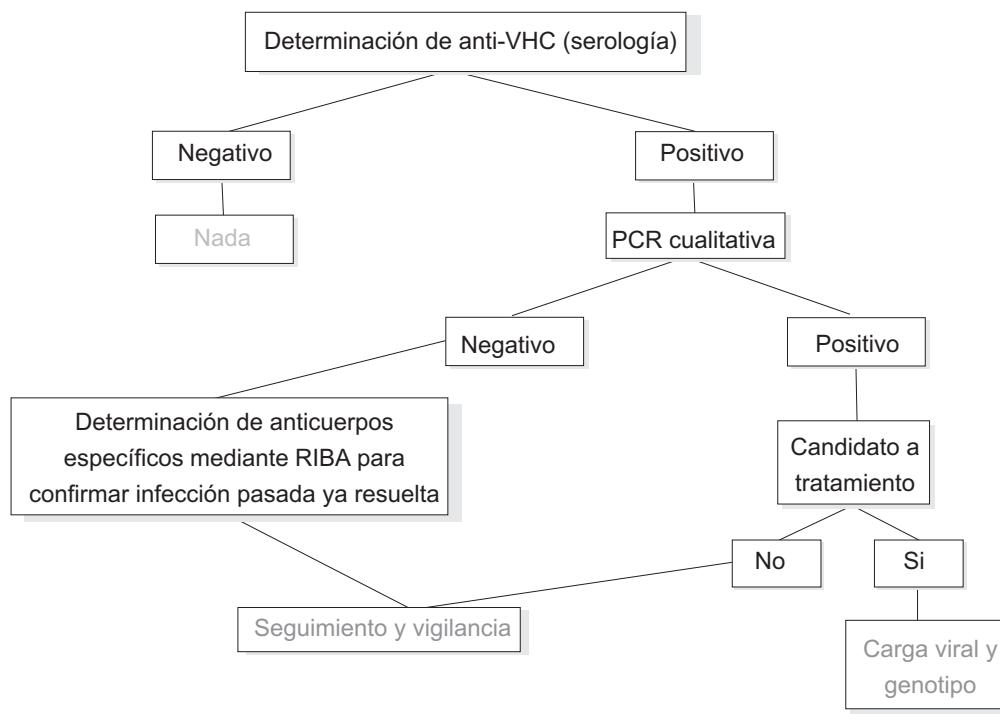
HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR VHC

Los únicos huéspedes del VHC conocidos hasta el momento son el humano y algunos primates menores, como el chimpancé (18).

La infección es resuelta por el sistema inmune del huésped sin tratamiento en aproximadamente el 15 al 25% de los individuos infectados. El restante 75-85% desarrolla enfermedad crónica, de los cuales del 15 al 20% pueden desarrollar enfermedad severa incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular que conducen a la muerte (1,7).

El cuadro clínico agudo inmediato a la adquisición del VHC se ha descrito en casos en que el inóculo es grande, como en la hepatitis postransfusional, o en casos de inmunosupresión (7,25). Este cuadro consiste en malestar generalizado, ictericia y a menudo fiebre, con una elevación marcada de las enzimas hepáticas. El cuadro clínico agudo se relaciona con una mayor probabilidad de eliminación posterior del virus, ya que se considera que este cuadro es el resultado de una respuesta inmune poderosa (25). Las manifestaciones clínicas de la infección crónica por VHC son sumamente inespecíficas y consisten en cansancio crónico, dolor muscular y articular menor y cambios en el rendimiento intelectual y emocional (7,25); éstos últimos pueden estar relacionados a la replicación del VHC en el sistema nervioso central (26) y a los efectos en el metabolismo del mismo (27). Clásicamente se ha mencionado que la adquisición del VHC a edades tempranas se relaciona con un peor pronóstico, sin embargo nuevas evidencias en estudios

FIGURA 4
ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO PARA LA INFECCIÓN POR VHC



prospectivos sugieren que esta creencia podría ser errónea (28-30).

Las proteínas virales interactúan con las del huésped (entre ellas p53, histonas y diversas enzimas), las que manejan al hepatocito para provecho viral. Se ha implicado a la proteína C con la génesis del hepatocarcinoma, dado que se ha demostrado que puede inactivar a p53 (1,18,25). Sin embargo, el VHC carece de verdaderos oncogenes (18).

Existen complicaciones extrahepáticas de la infección crónica por VHC, entre las que se describen a la porfiria cutánea tarda, la crioglobulinemia, síndrome nefrótico y mayor probabilidad en el desarrollo de linfomas (1,7,25).

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VHC

Las técnicas de diagnóstico de la infección por VHC se desarrollaron tan pronto como el virus fue descubierto como el principal causante de la hepatitis no-A no-B (1-3). La detección de la infección se hace mediante análisis de una muestra de plasma o suero. Las pruebas de diagnóstico son usadas en tres importantes rubros: 1. Detectar la infección activa; 2. Guiar la decisión del tratamiento; 3. Valorar la respuesta al tratamiento. Así, las técnicas de detección de la infección por VHC radican en dos estrategias (7,31): 1. Detección de anticuerpos anti-VHC (técnica indirecta); 2. Detección del RNA del VHC (técnica directa). Recientemente se ha desarrollado la detección del antígeno "core" del VHC, que ha mostrado correlacionar estrechamente con los niveles de RNA en suero, por lo que indica replicación activa (31). Esta se considera una técnica directa de detección.

La detección de anticuerpos anti-VHC ha evolucionado con el tiempo a ensayos más sensibles y específicos. Existen

dos principales procedimientos: 1. Técnicas basadas en inmunoensayo; 2. Técnicas basadas en hibridación de proteínas (*immunoblot*). Con éstas técnicas se detectan anticuerpos dirigidos contra las proteínas virales NS3, NS4, NS5 y C. Son altamente sensibles, sin embargo su especificidad varía según la población considerada (pacientes con daño hepático *versus* asintomáticos) (12,31). Las técnicas de inmunoensayo actualmente en uso son de tercera generación. La detección de anticuerpos es automatizada en equipos IMx o AxSYM, generalmente (aunque existen otros).

Las técnicas de inmunoensayo se usan únicamente como de escrutinio o tamizaje (detección de posibles casos) y no para confirmar la presencia de infección por VHC (12). Por lo tanto es necesario el uso de un análisis confirmatorio complementario. La confirmación de la presencia de anticuerpos anti-VHC específicos se hace con la técnica conocida como RIBA (*Recombinant Immunoblot Assay*). Con el RIBA se confirma que existen anticuerpos específicos anti-VHC, mas no si el virus está presente o ausente en la sangre (viremia).

Las técnicas de detección del RNA del VHC se consideran confirmatorias de la presencia de viremia. Estas técnicas pueden ser cualitativas o cuantitativas. Las técnicas cualitativas arrojan resultados de positividad o negatividad y son más sensibles (12,31). El límite más bajo de detección de estas pruebas puede llegar a ser de 50 UI por mL de suero. Existen ensayos manuales (caseros) o automatizados. La detección del RNA del VHC se realiza actualmente con una de tres maneras (31): 1. RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa con previa retrotranscripción); 2. TMA (Amplificación mediada por transcripción); 3. DNA-Branched (té-

nica de amplificación de la señal del DNA ramificado). La técnica más usada en México es la basada en RT-PCR. La RT-PCR puede ser cualitativa o cuantitativa. La RT-PCR cuantitativa nos da información sobre la carga viral, es decir, nos arroja un resultado numérico (en unidades internacionales, UI). Sin embargo, esta técnica es mucho menos sensible que la cualitativa (el límite inferior de detección es de 600 copias por mL). La determinación de la carga viral (RT-PCR cuantitativa) puede expresar si el virus está presente en la sangre (pues da un valor numérico), pero no nos informa con certeza si el virus *no* está presente. Por eso no debe ser usada para diagnosticar una infección (12). La determinación de la carga viral se usa para valorar la respuesta al tratamiento durante y después del mismo, tomando una determinación de la carga viral basal (antes de iniciarla) para realizar las comparaciones respectivas.

Para hacer el diagnóstico de la infección por VHC (Figura 4) es necesario tomar en cuenta los siguientes aspectos:

- La “serología” (detección de anticuerpos) es una prueba de escrutinio.
- El RIBA es una prueba para confirmar la presencia de anticuerpos.
- La RT-PCR cualitativa confirma la presencia del RNA el VHC en sangre (viremia).
- La RT-PCR cuantitativa (carga viral) sirve para valorar si un paciente ha respondido al tratamiento.

La progresión normal de la enfermedad por el VHC está asociada con un incremento en el nivel de la viremia durante la etapa aguda de la infección. Durante este tiempo y antes del desarrollo de anticuerpos (periodo de seroconversión), la detección del VHC sólo se puede detectar mediante diagnóstico molecular (RT-PCR) (12).

Después de la infección primaria, existe un tiempo que va de 40 a 80 días para detectar los anticuerpos contra el VHC en muestras de suero (1,7,12). Ya que aproximadamente el 15% de las infecciones se resuelven favorablemente sin tratamiento, es indispensable distinguir entre una infección pasada y una infección activa, debido a que los anticuerpos pueden permanecer en los sujetos que fueron infectados entre 10 y 20 años posterior a la resolución de la infección (12).

TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC

Actualmente no existe cura para la infección crónica por VHC y los tratamientos empleados distan de ser perfectos. Los esquemas actuales han contemplado el uso de fármacos con índice terapéutico relativamente bajo. El uso de interferón a pegilado (peginterferón α) en combinación con ribavirina ha demostrado ser el tratamiento más eficaz para la disminución de la carga viral y disminuir o incluso revertir el daño hepático causado por el VHC (7,32). Existen en el mercado dos formulaciones distintas del peginterferón α : 2a y 2b; con esquemas de tratamiento un tanto diferentes (Tablas I y II), pero con eficacia comparable. Hasta el momento el único factor con que contamos para evaluar la eficacia del tratamiento es la llamada respuesta virológica sostenida (RVS), que se refiere a la ausencia de viremia 12 semanas después de haber concluido el tratamiento. Sin

embargo, es posible predecir tempranamente qué pacientes tendrán una RVS: si a las 12 semanas de iniciado el tratamiento no se presenta negativización de la viremia, o la carga viral no desciende en por lo menos dos logaritmos, las probabilidades de que ocurra una RVS son muy pobres, por lo que se debe suspender el tratamiento (7,32). Carecemos de estudios a largo plazo que determinen adecuadamente el número de vidas salvadas. Los efectos benéficos atribuidos al tratamiento con peginterferón α más ribavirina son: inhibición de la replicación viral, inhibición de la traducción de proteínas del VHC, supresión de la proliferación celular, potenciación de la función fagocítica de los macrófagos, potenciación de la citotoxicidad linfocítica contra células infectadas, inhibición de la producción de colágeno y potenciación de su degradación, disminución de la carga viral del VHC, inhibición de la progresión del daño histológico, probable disminución de las complicaciones hepáticas (32).

El tratamiento combinado con peginterferón α más ribavirina está indicado básicamente cuando: 1. Se ha documentado la presencia de anticuerpos anti-VHC (ELISA) y del RNA del VHC; 2. El paciente es mayor de 18 años; 3. Nunca ha sido tratado con interferón; 4. El paciente tiene enfermedad hepática compensada (7,32).

CONCLUSIÓN

La biología molecular ha permitido el desarrollo acelerado del conocimiento de la infección por el VHC, sin embargo, tres objetivos aún están por cumplirse: 1. El desarrollo de un método eficiente de cultivo que permita el conocimiento a detalle del ciclo de vida del virus; 2. El desarrollo de una vacuna eficiente y 3. La generación de un tratamiento que ofrezca la curación de los pacientes afectados con esta infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bonkovsky HL, Mehta S. Hepatitis C: A review and update. *J Am Acad Dermatol*, 2001;44:159-79.
2. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis. *Science*, 1989;244:359-62.
3. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnik GL, Redecker AG, Purcell RH, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of non-A, non-B hepatitis. *Science*, 1989;244:362-4.
4. Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991;88:2452-5.
5. Memom MI, Memom MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat*, 2002;9:84-100.
6. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gibble J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L, Cheung L, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *NEJM*, 1996;334:1691-6.
7. Poynard T, Yuen MF, Ratiu V, Lai CL. Viral hepatitis C. *Lancet*, 2003;362:2095-3000.
8. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *NEJM*, 1999;341:556-62.
9. Méndez-Sánchez N, Aguilar-Ramírez JR, Reyes A, Dehesa M, Juárez A, Castañeda B, Sánchez-Ávila F, et al. Etiology of liver cirrhosis in Mexico. *Ann Hepatol*, 2004;3:30-33.
10. Méndez-Sánchez N, Sánchez-Ávila JF, Hernández-López VJ, Poo JL, Guevara-González L, Uribe M. Epidemiología e impacto social del virus de la hepatitis C. En: Méndez-Sánchez N, Uribe M. *Conceptos actuales en hepatitis C*. México, McGraw-Hill-Interamericana. 2003. 1-17.
11. Vivas-Arceo C, Benavides SA, De Jesus Trujillo J, Panduro A, Rivas-

- Estilla AM. Hepatitis C virus: prevalence and routes of infection among blood donors of West Mexico. *Hepatol Res*, 2003;25(2):115-123.
12. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L; Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*, 2003;52(RR-3):1-13.
 13. Kiely P, Kay D, Parker S, Piscitelli L. The significance of third-generation HCV RIBA-indeterminate, RNA-negative results in voluntary blood donors screened with sequential third-generation immunoassays. *Transfusion*, 2004;44:349-358.
 14. Sookian S, Castaño G. Evaluation of a third generation anti-HCV assay in predicting viremia in patients with positive HCV antibodies. *Ann Hepatol*, 2002;4:179-178.
 15. Simmonds P. Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. *J Hepatol*, 1999;31(S1):54-60.
 16. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev*, 2000;13:223-35.
 17. Rosenberg S. Recent advances in the molecular biology of hepatitis C virus. *J Mol Biol*, 2001;313(3):451-64.
 18. Kohara M. Hepatitis C virus replication and pathogenesis. *J Dermatol Sci*, 2000;(3):161-8.
 19. Simmonds P. The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. *J Gen Virol*, 2001;2:693-712.
 20. Smith DB, Pathirana S, Davidson F, Lawlor E, Power J, Yap PL, Simmonds P. The origin of hepatitis C virus genotypes. *J Gen Virol*, 1997;78:321-8.
 21. Pybus OG, Charleston MA, Gupta S, Rambaut A, Holmes EC, Harvey PH. The epidemic behavior of the hepatitis C virus. *Science*, 2001;292(5525):2323-5.
 22. Vandelli C, Renzo F, Romano L, Tisminetzky S, De Palma M, Stroffolini T, Ventura E, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol*, 2004;99(5):855-9.
 23. Jones IM, Jiang WR, Clarke BE. Receptors for hepatitis C virus. *J Virol*, 2000;74(22):10860-1.
 24. Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999;96(22):12766-71.
 25. Lauer GM, Walker BD. Medical Progress: Hepatitis C Virus Infection. *NEJM*, 2001;345:41-52.
 26. Radkowski M, Wilkinson J, Nowicki M, Adair D, Vargas H, Ingui C, Rakela J, Laskus T. Search for hepatitis C virus negative-strand RNA sequences and analysis of viral sequences in the central nervous system: evidence of replication. *J Virol*, 2002;76(2):600-8.
 27. Forton DM, Allsop JM, Main J, Foster GR, Thomas HC, Taylor-Robinson SD. Evidence for a cerebral effect of the hepatitis C virus. *Lancet*, 2001;(9275):38-9.
 28. Casiraghi MA, De Paschale M, Romano L, Biffi R, Assi A, Binelli G, Zanetti AR. Long-term outcome (35 years) of hepatitis C after acquisition of infection through mini transfusions of blood given at birth. *Hepatology*, 2004;39(1):90-6.
 29. Jara P, Resti M, Hierro L, Giacchino R, Barbera C, Zancan L, et al. Chronic hepatitis C virus infection in childhood: clinical patterns and evolution in 224 white children. *Clin Infect Dis*, 2003;36(3):275-80.
 30. García-Monzón C, Jara P, Fernández-Bermejo M, Hierro L, Frauca E, Camarena C, et al., Chronic hepatitis C in children: A clinical and immunohistochemical comparative study with adult patients. *Hepatology*, 1998;28(6):1696-01.
 31. Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology*, 2002;36:S65-S73.
 32. Baker DE. Pegylated interferon plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C. *Rev Gastroenterol Disord*, 2003;3(2):93-109.

ERWIN CHIQUETE ANAYA¹

LAURA VERONICA SÁNCHEZ OROZCO²

ARTURO PANDURO CERDA³

¹ Pasante del Doctorado de Biología Molecular en Medicina. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”.

² Profesor Investigador Titular A. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”. Departamento de Fisiología, CUCS. UdeG.

³ Profesor Investigador Titular C. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”.

CORRESPONDENCIA

Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”. Hospital # 278, Guadalajara, Jalisco. 44280. Tel/fax (33) 36-14-7743. Correo electrónico: erwinchiquete@runbox.com

Conflictivo de interés no declarado



Simão César Dórdio Gomes